

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2002 年 1 月 10 日 (10.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/02736 A1(51) 国際特許分類:
I/38, C12Q 1/68, B01J 19/00

C12M 1/20,

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): プレ
シジョン・システム・サイエンス株式会社 (PRE-
CISION SYSTEM SCIENCE CO., LTD.) [JP/JP]; 〒
271-0064 千葉県松戸市上本郷88 Chiba (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP01/05598

(22) 国際出願日:

2001 年 6 月 28 日 (28.06.2001)

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 田島秀二
(TAJIMA, Hideji) [JP/JP]; 〒271-0064 千葉県松戸市
上本郷88 プレシジョン・システム・サイエンス株
式会社内 Chiba (JP).

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願2000-197821 2000 年 6 月 30 日 (30.06.2000) JP

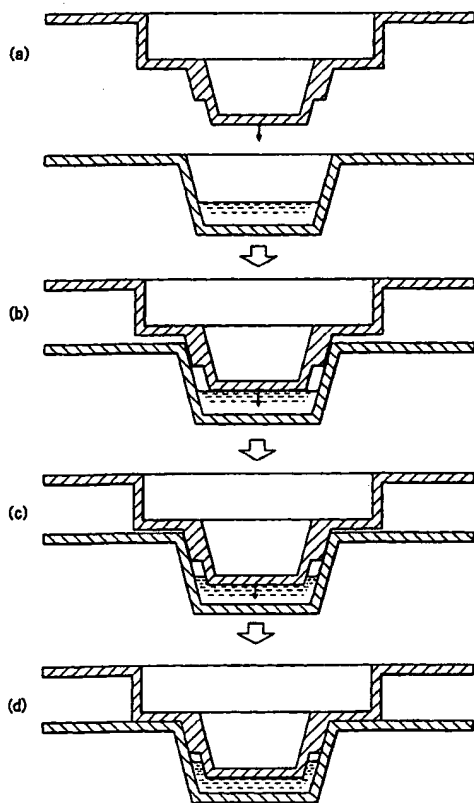
(74) 代理人: 早川裕司, 外 (HAYAKAWA, Yuji et al.); 〒
104-0061 東京都中央区銀座6-10-16 バレ銀座ビル10F
アーケイディア特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AU, CA, KR, US.

[続葉有]

(54) Title: REACTION VESSEL, REACTION DEVICE AND TEMPERATURE CONTROL METHOD FOR REACTION LIQ-
UID

(54) 発明の名称: 反応容器、反応装置および反応液の温度制御方法



(57) Abstract: A reaction vessel requiring no centrifugal force when storing a reaction liquid into a reaction chamber, and capable of quickly controlling the temperature of a reaction liquid stored in a reaction chamber and expediting a reaction even when a trace amount of a reaction liquid is stored in a reaction chamber, the reaction vessel comprising a reaction vessel body provided with a reaction chamber having an opening at the top end thereof, for storing a reaction liquid therein, and a cover material capable of sealing the opening of the reaction chamber, characterized in that the above cover material has a pressurizing portion for pressurizing a reaction liquid stored in the reaction chamber.

[続葉有]

WO 02/02736 A1



(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(57) 要約:

反応液を反応室に収容する際に遠心を必須とせず、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができるとともに、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができる反応容器を提供することを目的とし、上端に開口部を有し反応液を収容し得る反応室を具備する反応容器本体と、前記反応室の開口部を封止し得る蓋材とを備える反応容器であって、前記蓋材が、前記反応室に収容された反応液を押圧し得る押圧部を有することを特徴とする反応容器を提供する。

明 細 書

反応容器、反応装置および反応液の温度制御方法

技術分野

本発明は、反応容器（特に、温度制御が必要な反応に好適に使用し得る反応容器）および該反応容器を利用した反応装置、並びに反応液の温度制御方法に関する。

背景技術

ポリメラーゼ連鎖反応（以下「PCR」という。）は、耐熱性ポリメラーゼとプライマーとを利用し、温度の昇降によって標的核酸を増幅させる技術であり、遺伝子工学や生物学的試験法・検出法等の分野で広く利用されている。

PCRの原理は、標的DNA配列を含む2本鎖DNAが1本鎖に解離する温度に維持する第1段階と、解離した1本鎖DNAに正方向および逆方向のプライマーがアニーリングする温度に維持する第2段階と、DNAポリメラーゼによって1本鎖DNAに相補的なDNA鎖が合成される温度に維持する第3段階の3段階に設定したサーマルプロフィール（温度昇降）に従ったサイクルを多数回繰り返すことにより、標的DNAを幾何級数的に増幅させる点にある。

例えば、標的DNA配列を含む2本鎖DNAと過剰量の1対のプライマーと耐熱性ポリメラーゼとを含む反応液を、95℃で30秒、65℃で30秒、72℃で1分を1サイクルとして30～40サイクル反応させることによりPCRを進行させることができる。95℃では2本鎖DNAは解離して1本鎖DNAとなる。次いで、プライマーの塩基配列に

応じて適当な温度（上記例では65℃）に冷却すると、プライマーと1本鎖DNAとがアニーリングする。次いで、ポリメラーゼの反応温度（上記例では72℃）に上昇させると、ポリメラーゼによるDNA合成反応が進行する。

このように、PCRにおいては反応液の温度制御が重要であるので、PCRは、通常、温度コントロールをプログラムできる恒温装置と該装置に使用できる反応容器とを利用して実施される。

最も一般的には、加熱・冷却装置が装備された金属ブロックの穴にマイクロチューブを密着させ、金属ブロックを介して、マイクロチューブ中の反応液に対し、加熱（2本鎖DNAの解離）、冷却（プライマーのアニーリング）、加熱（ポリメラーゼによる伸長反応）のサイクルを繰り返す装置が使用される。金属ブロックの冷却方式には、コンプレッサーを用いるものと、ペルチェ冷却方式のものの2種類がある。最近では、金属ブロックを使用するのではなく、マイクロチューブをラックごと移動して、3つの温度の独立した液相または固相のインキュベーターに順次浸漬することにより、マイクロチューブ中の反応液に対し、加熱（2本鎖DNAの解離）、冷却（プライマーのアニーリング）、加熱（ポリメラーゼによる伸長反応）のサイクルを繰り返す装置もある。

スクリーニングを目的してPCRを行なう場合のように検体数が多い場合には、多数の検体を一度に処理するために、PCR用マイクロタイタープレート（96ウェル）を用いて96検体のPCRを一度に行なうことができる装置も開発されている。

特に最近、遺伝子診断やゲノムプロジェクトにおいて多数の検体を効率よく処理するために、標的核酸を含む試料の調製（細胞からの核酸の抽出）、PCRによる標的核酸の増幅、標的核酸の解析、といった一連の作業を自動化し、多数の検体を並列的に効率よく処理する必要性が高ま

っている。そして、これら一連の作業を自動化し、多数の検体を並列的に効率よく処理するためには、第一にPCRに要する時間を出来るだけ短縮すること、第二にPCRに要する検体の量を出来るだけ少量にすることが必要となる。

しかし、従来のPCR用反応装置およびPCR用反応容器は、95℃で30秒、65℃で30秒、72℃で1分を1サイクルとして30～40サイクル反応させるといった典型的な温度制御によってPCRを実施することを目的としているため、従来のPCR用反応装置およびPCR用反応容器を用いて、PCRに要する時間を出来るだけ短縮するという目的を達成することは困難である。例えば、従来のPCR用反応装置およびPCR用反応容器を用いて、95℃で30秒、65℃で30秒、72℃で1分を1サイクルとして30～40サイクル反応させた場合には、PCRを完了するまでに1時間程度の時間を要することとなる。

また、従来のPCR用反応装置およびPCR用反応容器において、検体（反応液）の量が少なすぎると、PCRの途中で反応液中の溶媒（通常は水）が蒸発し、反応が停止してしまう場合がある。これは、PCRが進行する反応室（例えば、マイクロチューブ、マイクロタイタープレートのウェル）内における空気と反応液との接触面積が大きいこと、反応液中の溶媒が蒸発しやすい環境にあること、並びに、反応室内壁の温度が不均一であり、反応室内壁に反応液の温度よりも低い部分が存在するため（例えば、マイクロチューブの上部、マイクロタイタープレートのウェルの上部）、蒸発した溶媒がその部分で液化してしまうこと、等が原因である。一般に、反応液中の溶媒の蒸発を防止するため、ミネラルオイル等を反応液上に重層することが行なわれているが、反応液が微量になると反応後にミネラルオイル下の反応液をサンプリングすることが困難となる。従って、従来のPCR用反応装置およびPCR用反応容器

を用いて、反応液の量を出来るだけ少量とするという目的を達成することは困難である。

このような状況の下、少量の反応液を、表面積が大きく熱伝導性のよいマイクロキャピラリーに封入して、ハロゲンランプ等を熱源とする熱風と室温の冷風で加熱・冷却を行なう装置が開発された。このタイプの装置としては、例えば、ライトサイクラー (LightCycler) (Roche Molecular Biochemicals製) が市販されている。この装置では、表面積が大きく熱伝導性のよいマイクロキャピラリーを利用することによって、約 $20^{\circ}\text{C}/\text{秒}$ の温度制御が可能となり、1 サイクルに $30 \sim 60$ 秒程度しか要せず、 30 サイクルを $15 \sim 30$ 分程度で完了することができる。また、マイクロキャピラリーを利用することによって $5 \sim 20 \mu\text{l}$ 程度の微量の反応液を用いた PCR を実現することができる。

このように、PCR 用反応容器としてマイクロキャピラリーを用いた PCR 用反応装置は、反応液の迅速な温度制御によって PCR に要する時間を短縮できるとともに、PCR に要する反応液の量を微量とすることができるので、PCR を単独で実施する際には極めて有用である。

発明の開示

PCR 用反応容器としてマイクロキャピラリーを用いた PCR 用反応装置では、マイクロキャピラリーに反応液を封入する際に、ガラスキャピラリーの上部に設置されたプラスチックコンテナに反応液を添加し、プラスチックストッパーで封止した後、遠心機にかけて反応液をプラスチックコンテナからガラスキャピラリー内へ移動させ、その後、各キャピラリーを遠心機から取り外し反応装置に設置する作業が必要となる。また、マイクロキャピラリーに反応液を封入する際に空気が混入すると、PCR の過程で加熱により空気が膨張し、マイクロキャピラリー内を

反応液が移動してPCRの増幅効率の低下等を引き起こすため、マイクロキャピラリーに反応液を封入する際には細心の注意を払う必要がある。

従って、PCR用反応容器としてマイクロキャピラリーを用いたPCR用反応装置を、標的核酸を含む試料の調製（細胞からの核酸の抽出）、PCRによる標的核酸の増幅、標的核酸の解析、といった一連の作業を自動化するために利用することは困難である。

そこで、本発明の第一の目的は、反応液を反応室に収容する際に遠心を必須とせず、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができるとともに、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができる反応容器を提供することにある。

また、本発明の第二の目的は、上記反応容器を利用した反応装置を提供することにある。

さらに、本発明の第三の目的は、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができる反応液の温度制御方法を提供することにある。

（１）上記第一の目的を達成するために、本発明は、上端に開口部を有し反応液を収容し得る反応室を具備する反応容器本体と、前記反応室の開口部を封止し得る蓋材とを備える反応容器であって、前記蓋材が、前記反応室に収容された反応液を押圧し得る押圧部を有することを特徴とする反応容器を提供する。

本発明の反応容器において、反応室は、上端に開口部を有し反応液を収容し得るものであり、反応液は、反応室の上端の開口部から添加され反応室に収容される。反応室は、目的の反応を生じさせる場所であり、反応室に収容される反応液には、目的の反応を生じさせる試薬等が含ま

れる。本発明の反応容器においては、反応液が反応室に収容された後、蓋材が反応容器本体に被着される。

本発明の反応容器において、反応室は、上端に開口部を有し反応液を収容し得るものであればよく、反応室の構造は特に限定されるものではない。本発明の反応容器において、反応室がキャピラリー（毛細管）のような構造を有している必要はなく、反応室に反応液を収容する際に遠心は必須とならない。本発明の反応容器は、反応容器本体に蓋材を被着すると、蓋材の押圧部が反応室の開口部から反応室の内部に進入し、反応室に収容された反応液を押圧するようになっているので、反応室は蓋材の押圧部が進入しやすい構造を有していることが好ましい。また、反応室は、開口部から添加された反応液がそのまま（反応液に下方へ重力以外の力を加えなくても）反応室の底面に到達し得るような構造を有していることが好ましい。従って、本発明の反応容器において、反応室がキャピラリーのような構造を有していることはむしろ適当ではない。

本発明の反応容器において、蓋材は、反応室の開口部を封止し得るものであり、蓋材が反応容器本体に被着されると、反応室の開口部は蓋材によって封止される。これによって、反応室に収容された反応液へのコンタミネーションを防止でき、反応室内において目的の反応を正確に生じさせることが可能となる。反応容器本体が複数の反応室を具備する場合には、各反応室の開口部が蓋材によって封止され、一の反応室に収容された反応液が他の反応室に混入することを防止することができ、各反応室内において目的の反応を正確に生じさせることが可能となる。

本発明の反応容器において、蓋材は、反応室に収容された反応液を押圧し得る押圧部を有するものであり、蓋材が反応容器本体に被着されると、蓋材の押圧部が反応室の開口部から反応室の内部に進入し、反応室に収容された反応液と接触し、該反応液を押圧する。蓋材の押圧部は、

蓋材が反応容器本体に被着される過程および／または被着された状態において、反応液を押圧し得るように設けられている。従って、蓋材が反応容器本体に被着される過程および／または被着された状態において、反応室に収容された反応液は、反応室との接触面を有するとともに、蓋材との接触面を有するようになる。これによって、反応液と反応室との接触面を介した熱移動だけでなく、反応液と蓋材との接触面を介した熱移動も可能となるため、反応液を押圧する前よりも迅速に反応液の温度を制御することが可能となる。例えば、反応室および蓋材の温度を上昇させることにより、反応液と反応室との接触面および反応液と蓋材との接触面を介して、反応室および蓋材から反応液へ熱を移動させ、反応液の温度を上昇させることができる。また、反応室および蓋材の温度を低下させることにより、反応液と反応室との接触面および反応液と蓋材との接触面を介して、反応液から反応室および蓋材へ熱を移動させ、反応液の温度を低下させることができる。

本発明の反応容器において、蓋材の押圧部は、蓋材が反応容器本体に被着される過程および／または被着された状態において反応液を押圧し得る限り、反応液と一定の接触面を維持した状態で反応液を押圧するように設けられていてもよいし、反応液との接触面を増加させながら反応液を押圧するように設けられていてもよい。

本発明の反応容器において、蓋材が反応容器本体に被着されると、蓋材の押圧部が反応室の開口部から反応室の内部に進入し、反応室内に存在する空気等の気体は反応室外に押出され、その状態で反応室の開口部が封止される。従って、反応室内に存在する空気等の気体の量は蓋材の被着前よりも減少している。さらに、反応室の内部に進入した蓋材の押圧部は、反応室内に収容された反応液と接触するので、反応室に存在する空気等の気体と反応液との接触面積は蓋材の被着前よりも減少してい

る。このように、蓋材が反応容器本体に被着されると、反応室内に存在する空気等の気体が減少するとともに、反応室内に存在する空気等の気体と反応液との接触面積が減少するので、反応室内で目的の反応を進行させる際に、反応室内に存在する空気等の気体への反応液の蒸発を抑制することができる。これによって、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることが可能となる。

本発明の反応容器においては、反応室内において目的とする反応を生じさせる。反応室内において目的の反応を生じさせる際には、必要に応じて反応液の温度を制御する。反応液の温度制御は、主として、反応液と反応室との接触面および反応液と蓋材との接触面を介した熱移動により行われる。反応室内に空気等の気体が存在する場合には、空気等の気体を介した熱移動も起こり得る。反応液の温度制御は、通常、蓋材が反応容器本体に被着された後に行なう。反応液の温度制御を蓋材が反応容器本体に被着された後に行なう場合には、反応液と反応室との接触面および反応液と蓋材との接触面を介した熱移動により反応液の温度を制御することができる。反応液の温度制御は、蓋材が反応容器本体に被着される前および／または被着される過程においても行なうことができる。蓋材が反応容器本体に被着される前においては、反応液と反応室との接触面を介した熱移動により反応液の温度を制御することができる。蓋材が反応容器本体に被着される過程においては、反応液と反応室との接触面および（蓋材の押圧部が反応液を押圧する状態であれば）反応液と蓋材との接触面を介した熱移動により反応液の温度を制御することができる。

本発明の反応容器において、反応室内で生じさせる反応は特に限定されないが、本発明の反応容器は、反応を開始、進行または停止させる際に反応液の温度を制御する必要がある反応（例えば、酵素反応）に好適

に使用することができ、反応を進行させる際に反応液の温度を周期的または経時的に制御する必要がある反応（例えばPCR）に特に好適に使用することができる。ここで、「反応液の温度制御」には、反応液の温度を変化（昇降）させること、および反応液の温度を維持することの両者が含まれる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記押圧部が、前記反応液の押圧により前記反応液と前記反応室との接触面積を増加させ得るように、前記蓋材に設けられている。ここで、「反応液と反応室との接触面積を増加させる」とは、反応液が押圧される前と比較して反応液と反応室との接触面積を増加させることを意味し、例えば、反応液と反応室との接触面積を反応液の押圧に従って漸次または段階的に増加させることが含まれる。この態様においては、反応液の押圧によって反応液と反応室との接触面積を増加させることにより、反応液と反応室との接触面を介した熱移動を効率よく行なうことができ、これによって反応液の温度をより迅速に制御することが可能となる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記押圧部が、前記反応液の押圧により前記反応液と前記押圧部との接触面積を増加させ得るように、前記蓋材に設けられている。ここで、「反応液と押圧部との接触面積を増加させる」ことには、反応液と押圧部との接触面積を反応液の押圧に従って漸次または段階的に増加させることが含まれる。この態様においては、反応液の押圧によって反応液と押圧部との接触面積を増加させることにより、反応液と押圧部との接触面を介した熱移動を効率よく行なうことができ、これによって反応液の温度をより迅速に制御することが可能となる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記押圧部が、前記反応室の押圧により前記反応液を薄状とし得るように、前記蓋材に設けら

れている。この態様においては、反応液が薄状となる程度まで反応液を押圧することによって、反応液と反応室との接触面積および反応液と蓋材との接触面積をより一層増加させることができる。これによって、反応液と反応室との接触面および反応液と蓋材との接触面積を介した熱移動を効率よく行なうことができ、反応液の温度をより迅速に制御することが可能となる。また、この態様においては、反応液の温度制御を反応液全体に対してほぼ均一に行なうことができ、反応液の温度を精度よく制御することが可能となる。さらに、この態様においては、反応液の表面積のうち大部分を反応室および蓋材との接触面にすることができ、これによって、反応室に存在する空気等の気体と反応液との接触面積をより一層減少させることができるので、反応室内に存在する空気等の気体への反応液の蒸発をより効率よく抑制することが可能となる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記蓋材が、前記反応室の開口部の周部と密着し得る第一の密着部を有する。この態様においては、蓋材が反応容器本体に被着された状態において、蓋材が有する第一の密着部と反応室の開口部の周部とが密着し、反応室が密封される。これによって、蓋材が反応容器本体に被着された状態における反応液へのコンタミネーションを防止することができる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記蓋材が、前記反応室の内面と密着し得る第二の密着部を有する。この態様においては、蓋材が反応容器本体に被着される過程および／または被着された状態において、蓋材が有する第二の密着部と反応室の内面とが密着し、反応室が密閉される。これによって、蓋材が反応容器本体に被着される過程および／または被着された状態における反応液へのコンタミネーションを防止することができる。さらに、蓋材が反応容器本体に被着される過程および／または被着された状態において、押圧により反応液が反応室の開

口部から反応室外に押出されることを防止することもできる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記蓋材が、前記蓋材を持ち上げ得る持ち上げ部を有する。この態様においては、持ち上げ部を持ち上げることによって、反応容器本体に被着した蓋材を反応容器から容易に脱着させることができる。反応容器本体からの蓋材の脱着は、例えば、反応室内で目的の反応を生じさせた後に行ない、これによって目的の反応によって生じた反応産物を回収することが可能となる。

本発明の反応容器の好ましい態様において、前記反応容器は、前記反応容器本体および／または前記蓋材と接触するように設けられた熱伝導性金属ブロックをさらに備える。この態様においては、反応容器本体と熱伝導性金属ブロックとの接触面を介して反応容器本体の温度制御が行なわれ、蓋材と熱伝導性金属ブロックとの接触面を介して蓋材の温度制御が行なわれる。そして、反応液と反応容器本体との接触面および反応液と蓋材との接触面を介して、反応液の温度制御が行なわれる。熱伝導性金属ブロックは、反応容器本体と蓋材のいずれか一方に接触するように設けられていてもよいし、両方に接触するように設けられていてもよい。熱伝導性金属ブロックは、反応容器本体および蓋材の形状に従って容易に成形できるので、反応容器本体と熱伝導性金属ブロックとの接触面積および蓋材と熱伝導性金属ブロックとの接触面積を大きくすることが可能であり、これによって熱伝導性金属ブロックを介した熱移動を効率よく行なうことができ、反応容器本体および蓋材の温度を迅速に制御することが可能となる。熱伝導性金属ブロックは、熱移動の媒体（熱交換器）として使用できる他、反応容器本体を保持する部材や、蓋材を反応容器本体に被着する際に蓋材を加圧する部材としても使用することができる。

本発明の反応容器の好ましい態様においては、前記反応液がPCR用

反応液であって、前記反応容器がPCR用反応容器である。この態様において、反応室内で生じさせる反応はPCRである。PCRは、反応液の温度を経時的または周期的に制御する必要があるが、本発明の反応容器は反応液の温度を迅速に制御することができるので、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、PCRに要する時間を短縮することが可能となる。また、PCRは、非常に微量の鋳型DNAを増幅する技術であるため、他のDNAのコンタミネーションが深刻な問題となるが、本発明の反応容器は反応液へのコンタミネーションを防止することができるので、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、PCRを精度よく行なうことが可能となる。さらに、本発明の反応容器は反応室に収容された反応液の蒸発を抑制することができるので、本発明の反応容器をPCR用反応容器として使用することにより、PCR用反応液が微量であってもPCRを進行させることが可能である。

(2) 上記第二の目的を達成するために、本発明は、本発明の反応容器と温度制御装置とを備える反応装置であって、前記温度制御装置が、前記反応室および前記蓋材の温度を制御し得るように設けられていることを特徴とする反応装置を提供する。

本発明の反応装置においては、温度制御装置によって反応室および蓋材の温度を制御することにより、反応液と反応室との接触面および反応液と蓋材との接触面を介して、反応液の温度を迅速に制御することが可能である。温度制御装置による反応室および蓋材の温度制御は、例えば、温度制御装置と反応室との接触面および温度制御装置と蓋材との接触面を介して行なうことができる。また、本発明の反応容器において、反応容器本体および／または蓋材と接触するように熱伝導性金属ブロック

が設けられている場合には、熱伝導性金属ブロックを介して、反応室および／または蓋材の温度制御を行なうことができる。

本発明の反応装置においては、反応液が存在する空間を構成する蓋材および反応容器本体の温度を制御することにより、反応液が存在する空間全体の温度を制御することができる。これによって、仮に反応室内に存在する空気中へ反応液が蒸発したとしても、蒸発した反応液が液化して反応液が漸次蒸発することを防止することができ、反応液が微量であっても反応を進行させることが可能となる。

本発明の反応装置の好ましい態様において、前記反応装置は、前記反応容器本体に被着した前記蓋材を前記反応容器本体から脱着させ得る蓋材脱着装置をさらに備える。この態様においては、蓋材脱着装置により反応容器本体に被着した蓋材を反応容器から容易に脱着させることができる。本発明の反応容器の蓋材が、蓋材を持ち上げ得る持ち上げ部を有する場合には、該持ち上げ部に蓋材脱着装置を装着することができる。反応容器本体からの蓋材の脱着は、例えば、反応室内で目的の反応を生じさせた後に行ない、これによって目的の反応によって生じた反応産物を回収することが可能となる。

本発明の反応装置の好ましい態様においては、前記反応容器がPCR用反応容器であって、前記反応装置がPCR用反応装置である。この態様において、反応室内で生じさせる反応はPCRである。PCRは、反応液の温度を経時的または周期的に制御する必要があるが、本発明の反応装置は反応液の温度を迅速に制御することができるので、本発明の反応装置をPCR用反応装置として使用することにより、PCRに要する時間を短縮することができる。

(3) 上記第三の目的を達成するために、本発明は、反応室に収容され

た反応液を押圧部材で押圧する工程（a）と、前記反応液と前記反応室との接触面および前記反応液と前記押圧部材との接触面を介して前記反応液の温度を制御する工程（b）とを含むことを特徴とする反応液の温度制御方法を提供する。

本発明の温度制御方法では、工程（a）において、反応室に收容された反応液を押圧部材で押圧することにより、反応室に收容された反応液が、反応室との接触面とともに押圧部材との接触面も有するようになる。これによって、反応液と反応室との接触面を介した熱移動だけでなく、反応液と蓋材との接触面を介した熱移動も可能となる。従って、工程（b）において、反応液と反応室との接触面および反応液と押圧部材との接触面を介して反応液の温度を制御することにより、反応液を押圧する前よりも迅速に反応液の温度を制御することが可能となる。工程（b）における反応液の温度制御は、反応液が押圧部材との接触面を有する限り、反応液を押圧部材で押圧しながら行なってもよいし、反応液を押圧部材で押圧した後に行なってもよい。

本発明の温度制御方法は、例えば、本発明の反応容器または本発明の反応装置を使用して実施することができるが、本発明の反応容器または本発明の反応装置以外の反応容器または反応装置を使用しても実施することができる。

本発明の温度制御方法の好ましい態様においては、前記工程（a）において、前記反応液と前記反応室との接触面積が増加するように、前記反応液を押圧する。この態様においては、工程（a）における反応液の押圧を、反応液と反応室との接触面積が反応液の押圧前と比較して増加するように行なう。工程（a）における反応液の押圧は、例えば、反応液と反応室との接触面積が反応液の押圧に従って漸次または段階的に増加するように行なう。この態様においては、反応液と反応室との接触面

積が増加するように反応液を押圧することによって、反応液と反応室との接触面を介した熱移動を効率よく行なうことができ、反応液の温度をより迅速に制御することが可能となる。

本発明の温度制御方法の好ましい態様においては、前記工程（a）において、前記反応液と前記押圧部材との接触面積が増加するように、前記反応液を押圧する。この態様においては、工程（a）における反応液の押圧を、例えば、反応液と押圧部材との接触面積が反応液の押圧に従って漸次または段階的に増加するように行なう。この態様においては、反応液と押圧部材との接触面積が増加するように反応液を押圧することによって、反応液と押圧部材との接触面を介した熱移動を効率よく行なうことができ、反応液の温度をより迅速に制御することが可能となる。

本発明の温度制御方法の好ましい態様においては、前記工程（a）において、前記反応液が薄状となるように、前記反応液を押圧する。この態様においては、反応液が薄状となるように反応液を押圧することによって、反応液と反応室との接触面積および反応液と押圧部材との接触面積がより一層増加させることができる。これによって、反応液と反応室との接触面および反応液と押圧部材との接触面を介した熱移動を効率よく行なうことができ、反応液の温度をより迅速に制御することが可能となる。また、この態様においては、反応液の温度制御を反応液全体に対してほぼ均一に行なうことができ、反応液の温度を精度よく制御することが可能となる。さらに、この態様においては、反応液の表面積のうち大部分を反応室および押圧部材との接触面にすることができ、これによって、反応室に存在する空気等の気体と反応液との接触面積をより一層減少させることができるので、反応室内に存在する空気等の気体への反応液の蒸発をより効率よく抑制することが可能となる。

本発明の温度制御方法の好ましい態様においては、前記反応液がP C

R用反応液である。この態様において、反応室内で生じさせる反応はPCRである。PCRは、反応液の温度を経時的または周期的に制御する必要があるが、本発明の反応装置は反応液の温度を迅速に制御することができるので、本発明の反応装置をPCR用反応装置として使用することにより、PCRに要する時間を短縮することができる。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の一実施形態に係る反応容器の断面図である。

図2は、本発明の一実施形態に係る反応容器本体の上面図である。

図3は、本発明の一実施形態に係る蓋材の下面図である。

図4(a)および(b)は、それぞれ本発明の別の実施形態に係る反応容器本体の断面図である。

図5(a)～(d)は、それぞれ本発明の別の実施形態に係る反応容器本体の断面図である。

図6は、本発明の別の実施形態に係る反応容器本体の上面図である。

図7(a)および(b)は、本発明の別の実施形態に係る反応容器の断面図である。

図8は、本発明の別の実施形態に係る蓋材の下面図である。

図9は、本発明の別の実施形態に係る蓋材の断面図である。

図10は、本発明の別の実施形態に係る反応容器本体の断面図である。

図11は、蓋材脱着部と反応容器本体固定部とを備える蓋材脱着装置を使用して反応容器本体から蓋材を脱着する際の状態を示す説明図である。

図12は、本発明の別の実施形態に係る反応容器の断面図である。

図13は、蓋材を反応容器本体に被着する過程における反応液の状態

の変化を示す説明図である。

図 1 4 は、本発明の一実施形態に係る反応容器にペルチェ素子を装着した状態を示す断面図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の反応容器の実施形態を図面に基づいて説明する。

図 1 は、本発明の反応容器の一実施形態を示す断面図である。

図 1 に示すように、本実施形態に係る反応容器 1 は、反応容器本体 2 と蓋材 3 と熱伝導性金属ブロック 5 とを備える。

図 2 は、本実施形態に係る反応容器本体 2 の上面図であり、図 3 は、本実施形態に係る蓋材 3 の下面図である。

反応容器本体 2 は、図 1 および図 2 に示すように、円形状の底板部 2 2 と、底板部 2 2 の周縁から上方に漸次拡張するように立設された筒状部 2 3 と、筒状部 2 3 の上端に設けられた平板部 2 4 とから構成されている。

反応容器本体 2 は、図 1 および図 2 に示すように、上端に開口部 2 1 1 を有し反応液 4 を収容し得る反応室 2 1 を具備している。図 1 および図 2 に示すように、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 は、反応容器本体 2 の平板部 2 4 の上面に形成されており、反応室 2 1 が反応液 4 を収容し得る空間は、反応容器本体 2 の底板部 2 2 と筒状部 2 3 とによって形成されており、反応室 2 1 は上端に開口部 2 1 1 を有する凹部として反応容器本体 2 に形成されている。

反応容器本体 2 における反応室 2 1 の形成のされ方は、反応室 2 1 が上端に開口部 2 1 1 を有し反応液 4 を収容し得る範囲内で変更可能である。例えば、図 4 (a) に示すように、円形状または矩形状の底板部 2 2 の上面に円筒状または角筒状の筒状部 2 3 が立設されることにより形

成された凹部を反応室 2 1 とすることや、図 4 (b) に示すように、反応容器本体 2 の内部に窪んだ穴として形成された凹部を反応室 2 1 とすることが可能である。

図 1 および図 2 に示すように、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 は円形状となっており、反応室 2 1 の側面 2 1 2 は開口部 2 1 1 から下方に向かって漸次縮径する筒状となっており、反応室 2 1 の底面 2 1 3 は円形状の平面となっている。従って、反応室 2 1 の構造は、開口部 2 1 1 から下方に向かって漸次縮径するように窪んだ縦断面台形となっている。

反応室 2 1 の構造は、上端に開口部 2 1 1 を有し反応液 4 を収容し得る範囲内で変更可能である。例えば、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 や底面 2 1 3 の形状を矩形状にすることや、反応室 2 1 の底面 2 1 3 を図 5 (a) に示すように曲面にすることが可能である。また、反応室 2 1 の構造を、図 5 (b) に示すように、開口部 2 1 1 から下方に向かって漸次縮径するように窪んだ縦断面半円状とすることや、図 5 (c) に示すように、開口部 2 1 1 から下方に向かって同一径を維持して窪んだ縦断面矩形状とすることも可能である。さらに、図 5 (c) に示す反応室 2 1 の底面 2 1 3 を図 5 (d) に示すように曲面とすることも可能である。

図 1 および図 2 に示すように、反応室 2 1 の構造は、開口部 2 1 1 の面積が底面 2 1 3 の面積よりも大きくなっており、開口部 2 1 1 から添加された反応液 4 がそのまま（反応液 4 に下方へ重力以外の力を加えなくても）底面 2 1 3 に到達しやすい構造になっている。反応液 4 の添加の仕方によっては反応室 2 1 の側面 2 1 2 に反応液 4 が付着する場合もあるが、そのような場合にはボルテックスミキサー等を利用して反応容器本体 2 に振動を与えることによって、反応液 4 を反応室 2 1 の底面 2 1 3 に到達させることができる。

反応室 2 1 の開口部 2 1 1 の直径は特に限定されないが、好ましくは

4～5 mmである。反応室 2 1 の深さは特に限定されないが、好ましくは 3～5 mmである。反応室 2 1 の底面 2 1 3 の直径は特に限定されないが、好ましくは 2～3 mmである。

反応容器本体 2 は、図 2 に示すように、一列に並んだ 8 個の反応室 2 1 を具備している。反応容器本体 2 が具備する反応室 2 1 の個数および位置は変更可能である。例えば、図 6 に示すように、縦列 8 個×横列 1 2 個の合計 9 6 個の反応室 2 1 を反応容器本体 2 に設けることが可能である。反応容器本体 2 が具備する反応室の個数は 1 個であってもよいが、試料の処理効率の点から複数であることが好ましい。8 連ノズルユニットを搭載した試料分注装置が市販されているので、反応室 2 1 への反応液の分注を自動化する場合には、図 2 および図 6 に示すように、反応容器本体 2 が 1 列に 8 個の反応室 2 1 を具備していることが好ましい。

反応容器本体 2 の大きさは特に限定されず、反応室 2 1 の個数等に応じて適宜決定し得る。

反応容器本体 2 の材質は、反応液 4 によって腐食されず、反応室 2 1 で生じる反応の条件（例えば、反応温度）に耐え得る限り特に限定されない。

反応容器本体 2 の材質としては、熱可塑性樹脂、金属、ガラス等を例示できる。反応容器本体 2 の材質として熱可塑性樹脂を使用すれば、射出成形等の常法によって反応容器本体 2 を容易に成形することができる。反応温度が高温（例えば 90～100℃）に達する場合には、耐熱性に優れた材料、例えばエンジニアリングプラスチック（例えば、ポリアミド、ポリアセタール、ポリカーボネート、ポリエステル等）を使用することが好ましい。

反応室 2 1 の側面 2 1 2 および底面 2 1 3 には、反応液 4 の種類に応じて適当な加工を施してもよい。例えば、反応液 4 に酵素や DNA が含

まれている場合には、反応室 2 1 の内面にシリコナイズ等の加工を施すことにより、反応室 2 1 の側面 2 1 2 および底面 2 1 3 への酵素や DNA の付着を防止することができる。

反応容器本体 2 を構成する底板部 2 2、筒状部 2 3 および平板部 2 4 は、図 1 に示すように略均一の厚みを有しているが、底板部 2 2、筒状部 2 3 および平板部 2 4 の厚みは変更が可能である。底板部 2 2 および筒状部 2 3 の厚みは、反応室 2 1 に収容された反応液 4 の温度を迅速に制御する点から薄い方が好ましい。底板部 2 2、筒状部 2 3 および平板部 2 4 の厚みは、好ましくは 0.1 ~ 0.5 mm である。

蓋材 3 は、図 1 および図 3 に示すように、下方に突出した凸部 3 6 と、凸部 3 6 の上端に設けられたドーナツ板状の第一の密着部 3 3 と、第一の密着部 3 3 の周縁に立設された筒状部 3 4 と、筒状部 3 4 の上端に設けられた平板部と 3 5 から構成されている。

蓋材 3 には、図 3 に示すように、8 個の凸部 3 6 が、反応容器本体 2 が具備する反応室 2 1 と対応する位置（図 2 参照）に設けられている。蓋材 3 における凸部 3 6 の数および位置は、反応容器本体 2 が具備する反応室 2 1 の数および位置に応じて変更が可能である。

凸部 3 6 は、反応容器本体 2 に反応室 2 1 として形成されている凹部と嵌合するように、蓋材 3 に設けられており、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着されると、凸部 3 6 が反応容器本体 2 に反応室 2 1 として形成されている凹部と嵌合し、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 が封止されるようになっている（図 1 3 参照）。

凸部 3 6 は、反応容器本体 2 に反応室 2 1 として形成されている凹部と嵌合した状態において、凸部 3 6 の先端部（押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1）が反応室 2 1 の底面 2 1 3 と接触しないように、蓋材 3 に設けられている（図 1 3 参照）。凸部 3 6 の先端部と反応室 2 1 の底面 2 1

3 とが接触すると、反応液 4 と凸部 3 6 の先端部との接触面積および反応液 4 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との接触面積が減少し、これらの接触面を介した反応液 4 の温度制御が困難となるからである。凸部 3 6 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との接触を防止する点からは、図 8 および図 9 に示すように、凸部 3 6 の下部にリブ 3 7 を設けることが好ましい。

凸部 3 6 は、図 1 に示すように、押圧部 3 1 と第二の密着部 3 2 とから構成されている。

押圧部 3 1 は、図 1 および図 2 に示すように、第一の接触部 3 1 1 と、第二の接触部 3 1 2 と、第三の接触部 3 1 3 とから構成されている。第一の接触部 3 1 1 は、図 1 および図 2 に示すように円板状となっており、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着された状態において反応室 2 1 の底面 2 1 3 と対向するように設けられている。第二の接触部 3 1 2 は、図 1 および図 2 に示すように、第一の接触部 3 1 1 の周縁から漸次拡径するように立設された筒状となっており、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着された状態において反応室 2 1 の側面 2 1 2 と対向するように設けられている。第三の接触部 3 1 3 は、図 1 および図 2 に示すように、第二の接触部 3 1 2 の上端に設けられたドーナツ形状となっており、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着された状態において反応室 2 1 の底面 2 1 3 と対向するように設けられている。

蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着される過程において、反応室 2 1 に収容された反応液 4 は、最初に第一の接触部 3 1 1 と接触し、次いで第二の接触部 3 1 2 と接触し、最後に第三の接触部 3 1 3 と接触する（図 1 3 参照）。すなわち、押圧部 3 1 は、反応液 4 との接触面積を増加させながら反応液 4 を押圧するように、蓋材 3 に設けられている。反応室 2 1 に収容された反応液 4 の量によっては、反応液 4 と第二の接触部 3 1 2 および第三の接触部 3 1 3 とが接触しない場合、あるいは反応液 4 と第

三の接触部 3 1 3 とが接触しない場合もあり得る。但し、反応液 4 と押圧部 3 1 との接触面積が大きいほど、反応液 4 と押圧部 3 1 との接触面を介した反応液 4 の温度制御を迅速に行なうことができるので、反応液 4 の迅速な温度制御の点から、反応液 4 と第二の接触部 3 1 2 とが接触するように押圧部 3 1 が蓋材 3 に設けられていることが好ましく、反応液 4 と第二の接触部 3 1 2 および第三の接触部 3 1 3 とが接触するように押圧部 3 1 が蓋材 3 に設けられていることがさらに好ましい。また、反応液 4 と第三の接触部 3 1 3 とが接触する場合には、反応室 2 1 内に存在する空気等の気体と反応液 4 との接触面積を小さくでき、これによって反応液 4 の蒸発を抑制できるので、反応液 4 の蒸発抑制の点から、反応液 4 と第三の接触部 3 1 3 とが接触するように、押圧部 3 1 が蓋材 3 に設けられていることが好ましい。

押圧部 3 1 は、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着される過程において、反応室 2 1 に収容された反応液 4 を押圧し得るように、蓋材 3 に設けられている。蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着される過程において、押圧部 3 1 は、反応室 2 1 の内部に進入し、反応室 2 1 内に収容されている反応液 4 と接触し、反応液 4 を押圧する（図 1 3 参照）。反応室 2 1 の構造、大きさ等に応じて押圧部 3 1 の構造、大きさ等を調整することにより、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着される過程において、押圧部 3 1 により反応室 2 1 に収容された反応液 4 を押圧することが可能である。

押圧部 3 1 は、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着された状態において、反応液 4 を薄状とし得るように、蓋材 3 に設けられている。すなわち、押圧部 3 1 は、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着された状態において、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との距離および押圧部 3 1 の第二の接触部 3 1 2 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との距離が短くなるように、蓋材 3 に設けられており、これによって、反応液 4

は、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との間および押圧部 3 1 の第二の接触部 3 1 2 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との間に、薄状（あるいは膜状）となって存在することとなる（図 1 3 参照）。第一の接触部 3 1 1 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との距離および第二の接触部 3 1 2 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との距離（すなわち、薄状の反応液 4 の厚さ）は、好ましくは 0.1 ~ 0.5 mm であり、第一の接触部 3 1 1 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との距離および第二の接触部 3 1 2 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との距離（すなわち、薄状の反応液 4 の厚さ）が均等であることがさらに好ましい。

押圧部 3 1 の構造は、反応室 2 1 に収容された反応液 4 を押圧し得る範囲内において変更が可能である。例えば、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 を矩形板状とすることや、第一の接触部 3 1 1 の下面を曲面とすることや、第二の接触部 3 1 2 を第一の接触部 3 1 1 の周縁から上方に同一径を維持する円筒状または角筒状とすることが可能である。

押圧部 3 1 の下部には、リブ 3 7 を設けてもよい。例えば、リブ 3 7 を、図 8 (a) および図 9 に示すように、第一の接触部 3 1 1 の周縁部から第二の接触部 3 1 2 の下部にかけて、十字状に並ぶように 4 個設けることができる。リブ 3 7 は、凸部 3 6 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との接触を防止する役割を果たすとともに、反応液 4 が存在する空間を形成するスペーサーの役割をも果たしている。さらに、リブ 3 7 は、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 と反応室 2 1 の底面 2 1 3 との距離および押圧部 3 1 の第二の接触部 3 1 2 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との距離を決定する役割をも果たしており、リブ 3 7 の大きさは、好ましくは反応液 4 を薄状とし得る大きさである。リブ 3 7 は、反応液 4 を分断しないように設けることが好ましい。これは、反応液 4 が分断されると、反応室 2 1 内で生じる反応の効率を低下するからである。

リブ 3 7 の個数、形状、構造、位置等は変更が可能である。例えば、リブ 3 7 の個数を、図 8 (b) に示すように 3 個とすることや、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 または第二の接触部 3 1 2 のみ設けることが可能である。また、リブ 3 7 は、反応室 2 1 の底面 2 1 3 および側面 2 1 2 のいずれか一方または両方に設けることが可能である。また、リブ 3 7 を省略することも可能である。

第二の密着部 3 2 は、図 1 および図 2 に示すように、押圧部 3 1 の第三の接触部 3 1 3 の周縁から上方に漸次拡張するように設けられた筒状となっており、その上端において第一の密着部 3 3 と連続している。第二の密着部 3 2 は、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着される過程および被着された状態において、反応室 2 1 の側面 2 1 2 と密着し得るように設けられている。第二の密着部 3 2 の構造、大きさ等は、反応室 2 1 の側面 2 1 2 に密着し得る範囲内で変更が可能である。例えば、第二の密着部 3 2 を、図 7 (a) に示すように、第一の密着部 3 3 と連続しないように設けることや、図 7 (b) に示すように、反応室 2 1 の側面 2 1 2 とが面接触ではなく線接触するように設けることが可能である。

第一の密着部 3 3 は、蓋材 3 が反応容器本体 2 に被着された状態において、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 の周部 2 4 1 (反応容器本体 2 の平板部 2 4 の上面のうち、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 の周辺部分) と密着し得るように、蓋材 3 に設けられている。第一の密着部 3 3 の構造、大きさ等は、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 の周部 2 4 1 と密着し得る範囲内で変更が可能である。例えば、図 10 (a) に示すように、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 の周部 2 4 1 に凹部 2 5 を設け、第一の密着部 3 3 に凹部 2 5 と嵌合し得る凸部 3 8 を設けることや、図 10 (b) に示すように、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 の周部 2 4 1 に凸部 2 6 を設け、第一の密着部 3 3 に凸部 2 6 と嵌合し得る凹部 3 9 を設けることが可能である。

蓋材 3 の平板部 3 5 は、蓋材 3 を持ち上げ得る持ち上げ部として使用できる。例えば、平板部 3 5 を把持して持ち上げ、反応容器本体 2 に被着した蓋材 3 を反応容器本体 2 から脱着させることが可能である。また、図 1 1 に示すように、蓋材脱着部 6 と反応容器本体固定部 7 とを備える蓋材脱着装置によって蓋材 3 を持ち上げ、反応容器本体 2 に被着した蓋材 3 を反応容器本体 2 から脱着させることが可能である。蓋材脱着装置の蓋材脱着部 6 は、蓋材 3 の平板部 3 5 と反応容器本体 2 の平板部 2 4 との間に挿入され、蓋材 3 の平板部 3 5 の下面と接触し、蓋材 3 の平板部 3 5 を持ち上げる。蓋材脱着装置の反応容器本体固定部 7 は、蓋材 3 の平板部 3 5 と反応容器本体 2 の平板部 2 4 との間に挿入され、反応容器本体 2 の平板部 2 4 の上面と接触し、反応容器本体 2 を固定する。蓋材脱着装置の蓋材脱着部 6 および反応容器固定部 7 の構造、大きさ等は、蓋材 3 の平板部 3 5 および反応容器本体 2 の平板部 2 4 の構造、大きさ等の応じて変更が可能である。

平板部 3 5 の構造、大きさ等は変更が可能である。例えば、平板部 3 5 は、蓋材 3 を持ち上げ得る持ち上げ部として使用できる範囲内で変更が可能であり、平板以外の構造とすることも可能である。

蓋材 3 の平板部 3 5 と反応容器本体 2 の平板部 2 4 との間には、蓋材 3 の筒状部 3 4 によって形成される空間が存在し、この空間があることによって、蓋材 3 を持ち上げる際に蓋材 3 の平板部 3 5 を把持しやすくなり、また蓋材脱着装置の蓋材脱着部 6 と反応容器本体固定部 7 とを挿入しやすくなる。筒状部 3 4 の構造、大きさ等は変更が可能である。

蓋材 3 の構造は、反応室 2 1 の開口部 2 1 1 を封止し得るとともに、反応室 2 1 に収容された反応液 4 を押圧し得る押圧部 3 1 を有する範囲内で変更可能である。

例えば、図 1 2 (a) に示すように、蓋材 3 の押圧部 3 1 に第二の接

触部 3 1 2 および第三の接触部 3 1 3 を設けずに第一の接触部 3 1 1 と第二の密着部 3 2 とを連続させることが可能である。但し、反応液 4 と押圧部 3 1 との接触面積を増加させる点からは、押圧部 3 1 に第二の接触部 3 1 2 および第三の接触部 3 1 3 を設けることが好ましい。

また、図 1 2 (b) に示すように、蓋材 3 に第二の密着部 3 2 を設けずに第三の接触部 3 1 3 と第一の密着部 3 3 とを連続させることが可能である。但し、反応室 4 の密閉度を増加させる点からは、第二の密着部 3 2 を設けることが好ましい。

さらに、図 1 2 (c) に示すように、筒状部 3 4 を設けず第一の密着部 3 3 と平板部 3 5 とを連続させることが可能である。但し、蓋材 3 の平板部 3 5 を持ち上げ部として使用する場合は持ち上げやすさを増加させる点からは、筒状部 3 4 を設けることが好ましい。

蓋材 3 の材質は、反応液 4 によって腐食されず、反応室 2 1 内で生じる反応の条件（例えば、反応温度）に耐え得る限り特に限定されない。蓋材 3 の材質としては、プラスチック、金属、ガラス等を例示できる。蓋材 3 の材質として熱可塑性プラスチックを使用すれば、射出成形等の常法によって蓋材 3 を容易に成形することができる。反応温度が高温（例えば 90～100℃）に達する場合には、耐熱性に優れた材料、例えばエンジニアリングプラスチック（例えば、ポリアミド、ポリアセタール、ポリカーボネート、ポリエステル等）を使用することが好ましい。

蓋材 3 の大きさは特に限定されず、反応容器本体 2 の大きさ等に応じて適宜決定し得る。蓋材 3 の板厚は特に限定されないが、熱移動の効率を高める点からは、蓋材 3 の板厚を薄くするのが好ましい。蓋材 3 の板厚は、好ましくは 0.1～0.5 mm である。

図 1 に示すように、反応容器 1 には 2 個の熱伝導性金属ブロック 5 が設けられている。そのうち 1 個は蓋材 3 に設けられており、もう 1 個は

反応容器本体 2 に設けられている。

蓋材 3 に設けられている熱伝導性金属ブロック 5 は、図 1 に示すように、下方に突出する凸部を有しており、当該凸部は、蓋材 3 の凸部 3 6 の内部に形成されている凹部と嵌合するように設けられている。

また、反応容器本体 2 に設けられている熱伝導性金属ブロック 5 は、図 1 に示すように、凹部を有しており、当該凹部は、反応容器本体 2 の底板部 2 2 および筒状部 2 3 によって構成される下方に突出する凸部と嵌合するように設けられている。

熱伝導性金属ブロック 5 に温度制御装置を装着することにより、熱伝導性金属ブロック 5 と反応容器本体 2 との接触面および熱伝導性金属ブロック 5 と蓋材 3 との接触面を介して、反応容器本体 2 および蓋材 3 の温度を制御することが可能である。そして、反応容器本体 2 および蓋材 3 の温度を制御することにより、反応液 4 と反応容器本体 2 との接触面および反応液 4 と蓋材 3 との接触面を介して、反応液 4 の温度を制御することが可能である。

熱伝導性金属ブロック 5 に装着する温度制御装置としては通常市販されているものを使用できる。温度制御装置は、反応容器本体 2 および蓋材 3 の温度を制御するように設けられていればよく、温度制御装置は反応容器本体 2 および蓋材 3 に直接装着されていてもよい。温度制御装置の冷却・加熱手段は特に限定されず、例えばペルチェ素子等を使用できる。温度制御装置の冷却・加熱手段としてペルチェ素子を使用する場合、例えば、図 1 4 に示すように、反応容器本体 2 の下面に設けられた熱伝導性金属ブロック 5 の下面にペルチェ素子 8 を接触させるとともに、蓋材 3 の上面に設けられた熱伝導性金属ブロック 5 の上面にペルチェ素子 8 を接触させることにより、反応容器本体 2 および蓋材 3 の迅速な温度制御が可能となる。

熱伝導性ブロック 5 の構造、大きさ等は変更が可能である。熱伝導性金属ブロック 5 と反応容器本体 2 および蓋材 3 との接触面積を大きくすることにより、反応容器本体 2 および蓋材 3 の温度制御を迅速に行なうことが可能となるので、熱伝導性金属ブロック 5 は、反応容器本体 2 および蓋材 3 との接触面積が大きくなるような構造を有しているのが好ましい。熱伝導性ブロック 5 は、蓋材 3 にのみ設けることや、反応容器本体 2 にのみ設けることが可能である。また、熱伝導性ブロック 5 を蓋材 3 にも反応容器本体 2 にも設けないことも可能である。

熱伝導性金属ブロック 5 は、その構造、大きさ等を適宜変更することによって、熱交換器としての役割の他に、反応容器本体 2 を支持するホルダーとしての役割や、反応容器本体 2 に蓋材 3 を被着する際に蓋材 3 を加圧する加圧部材としての役割も果たすことも可能である。

熱伝導性金属ブロック 5 の材質は、熱伝導性を有する金属である限り特に限定されないが、好ましくはアルミニウム、銅、鉄等の熱伝導性がよい金属である。また、熱伝導性金属ブロック 5 の材質は、2 種以上の熱伝導性金属の合金であってもよい。

図 1 3 は、蓋材 3 を反応容器本体 2 に被着する過程における反応液 4 の状態の変化を示す図である。

蓋材 3 を反応容器本体 2 に被着する前においては、図 1 3 (a) に示すように、押圧部 3 1 と反応液 4 は接触しておらず、反応液 4 は反応室 2 1 の側面 2 1 2 および底面 2 1 3 とのみ接触している。この際、反応液 4 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 および底面 2 1 3 との接触面積は一定である。

蓋材 3 を反応容器本体 2 に被着する過程においては、まず、図 1 3 (b) に示すように、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 が反応液 4 の上面と接触する。この際、反応液 4 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 および底面 2

1 3 との接触面積に変化はない。

押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 が反応液 4 の上面と接触した後、図 1 3 (c) に示すように、蓋材 3 の第一の接触部 3 1 1 は反応液 4 を押圧する。これによって反応液 4 の液面が上昇し、押圧部 3 1 の第二の接触部 3 1 2 が反応液 4 と接触し反応液 4 を押圧するようになるとともに、反応液 4 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との接触面積が増加する。第一の接触部 3 1 1 と第二の接触部 3 1 2 による押圧を継続すると、反応液 4 の液面がさらに上昇し、反応液 4 と第二の接触部 3 1 2 との接触面積および反応液 4 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との接触面積がさらに増加する。反応液 4 の量によっては、押圧部 3 1 の第三の接触部 3 1 3 も反応液 4 と接触し、反応液 4 を押圧する。このように、押圧部 3 1 は反応液 4 との接触面積を増加させながら反応液 4 を押圧し、押圧部 3 1 による反応液 4 の押圧に従って反応液 4 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との接触面積が増加する。

押圧部 3 1 の第三の接触部 3 1 3 と反応液 4 とが接触した場合、その時点で、押圧部 3 1 による反応液 4 の押圧を終了してもよいし、さらに反応液 4 の押圧を継続させてもよい。反応液 4 の押圧を継続する場合には、蓋材 3 の加圧が必要となる。蓋材 3 を加圧して反応液 4 の押圧を継続することにより、反応室 2 1 内に存在する空気等の気体を第二の密着部 3 2 および第一の密着部 3 3 を通じて反応室 2 1 外へ排気することができる。この際、第二の密着部 3 2 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 との密着度および第一の密着部 3 3 と反応容器本体 2 の平板部 2 4 上面との密着度は完全なものではなく、蓋材 3 の加圧によって反応室 2 1 内に存在する空気等の気体を反応室 2 1 外に排気し得る程度の密着度である。反応容器本体 2 および蓋材 3 がプラスチック等のようにある程度の弾力性を有する材料によって形成されている場合には、蓋材 3 の加圧によって反

応室 2 1 内に存在する空気等を反応室 2 1 外に排気し得る程度の密着度を達成することが可能である。

蓋材 3 を反応容器本体 2 に被着した後においては、図 1 3 (d) に示すように、反応液 4 は、蓋材 3 の押圧部 3 1 と反応室 2 1 の側面 2 1 2 および底面 2 1 3 との間に薄状となって存在している。

反応液 4 の温度制御は、一般には、蓋材 3 を反応容器本体 2 に被着した後、押圧部 3 1 と反応液 4 との接触面および反応室 2 1 と反応液 4 との接触面を介して行なう。但し、押圧部 3 1 の第一の接触部 3 1 1 が反応液 4 の上面と接触した後であれば、蓋材 3 を反応容器本体 2 に被着する過程において反応液 4 の温度制御を行なうことも可能である。

反応液 4 は、反応室 2 1 で生じさせる目的の反応に応じて適宜選択することができる。反応容器 1 の対象となる反応は特に限定されないが、反応を進行させる際に反応温度の調節が必要な反応に使用するのが好ましい。反応温度の調節には、反応温度を一定範囲内の温度に維持すること、反応温度を経時的または周期的な変化させること等が含まれる。反応を進行させる際に反応温度の調節が必要な反応としては、酵素反応、PCR 等を例示できる。酵素はタンパク質であり極端な熱によって変性する場合があるため、酵素反応は反応を進行させる際に反応温度の調節が必要となる。また PCR では、一般的に、鋳型となる 2 本鎖 DNA が 1 本鎖 DNA に解離する温度、解離した 1 本鎖 DNA にオリゴヌクレオチドプライマーがアニーリングする温度、ポリメラーゼによってプライマー部位から相補的な DNA 鎖が合成される温度、の 3 段階の温度に経時的、周期的に変化させることが必要となる。反応容器 1 は、PCR のように多段階の温度調節が必要となる反応に特に適している。

反応室 2 1 で生じさせる反応が PCR である場合には、反応液 4 は PCR 用反応液である。PCR 用反応液には、通常、 H_2O 、バッファー

、 $MgCl_2$ 、dNTPミックス、プライマー、鋳型DNA、Taqポリメラーゼ等が含まれる。PCR後にPCR産物を定量する場合には、反応液4にエチジウムブロマイド、SYBR Green I、PicoGreen等の蛍光色素を添加しておくことと便利である。これらの蛍光色素はDNAにインターカレートするので、蛍光色素によって発せられる蛍光をCCDカメラ、蛍光検出用のマイクロプレートリーダー、分光蛍光光度計等を用いて検出することにより、PCRによって生成したDNA量を定量することができる。また、PCR産物を定量するために、5'末端を蛍光色素や放射性同位体で標識したプライマーや、放射性同位体で標識したdNTPミックス（例えば $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ ）を加えておいてもよい。

反応液4の量は反応室21に収容し得る限り特に限定されない。反応液4がPCR用反応液である場合、反応液4の量は好ましくは2～50 μl である。

例えば、反応室21の開口部211の直径が4 mm、反応室21の深さが3 mm、反応室21の底面213の直径が2 mm、第一の接触部311と反応室21の底面213との距離および第二の接触部312と反応室21の側面212との距離（すなわち、薄状の反応液4の厚さ）が約0.1 mmである場合、反応液4の量は好ましくは2～4 μl であり、さらに好ましくは約3 μl である。また、反応室21の開口部211の直径が4 mm、反応室21の深さが3 mm、反応室21の底面213の直径が2 mm、第一の接触部311と反応室21の底面213との距離および第二の接触部312と反応室21の側面212との距離（すなわち、薄状の反応液4の厚さ）が約0.5 mmである場合、反応液4の量は好ましくは15～17 μl 、さらに好ましくは約16 μl である。

また、反応室21の開口部211の直径が5 mm、反応室21の深さ

が5 mm、反応室21の底面213の直径が3 mm、第一の接触部311と反応室21の底面213との距離および第二の接触部312と反応室21の側面212との距離（すなわち、薄状の反応液4の厚さ）が約0.1 mmである場合、反応液4の量は好ましくは6～8 μ lであり、さらに好ましくは約7 μ lである。また、反応室21の開口部211の直径が5 mm、反応室21の深さが5 mm、反応室21の底面213の直径が3 mm、第一の接触部311と反応室21の底面213との距離および第二の接触部312と反応室21の側面212との距離（すなわち、薄状の反応液4の厚さ）が約0.5 mmである場合、反応液4の量は好ましくは34～36 μ l、さらに好ましくは約35 μ lである。

産業上の利用の可能性

本発明によれば、反応液を反応室に収容する際に遠心を必須とせず、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができるとともに、反応室に収容された反応液の量が微量であっても反応を進行させることができる反応容器を提供される。また、本発明によれば、上記反応容器を利用した反応装置が提供される。さらに、本発明によれば、反応室に収容された反応液の温度を迅速に制御することができる反応液の温度制御方法が提供される。

請 求 の 範 囲

1. 上端に開口部を有し反応液を収容し得る反応室を具備する反応容器本体と、前記反応室の開口部を封止し得る蓋材とを備える反応容器であって、前記蓋材が、前記反応室に収容された反応液を押圧し得る押圧部を有することを特徴とする反応容器。
2. 前記押圧部が、前記反応液の押圧により前記反応液と前記反応室との接触面積を増加させ得るように、前記蓋材に設けられていることを特徴とする請求項 1 記載の反応容器。
3. 前記押圧部が、前記反応液の押圧により前記反応液と前記押圧部との接触面積を増加させ得るように、前記蓋材に設けられていることを特徴とする請求項 1 または 2 記載の反応容器。
4. 前記押圧部が、前記反応液の押圧により前記反応液を薄状とし得るように、前記蓋材に設けられていることを特徴とする請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の反応容器。
5. 前記蓋材が、前記反応室の開口部の周部と密着し得る第一の密着部を有することを特徴とする請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の反応容器。
6. 前記蓋材が、前記反応室の内面と密着し得る第二の密着部を有することを特徴とする請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の反応容器。
7. 前記蓋材が、前記蓋材を持ち上げ得る持ち上げ部を有することを特徴とする請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の反応容器。
8. 前記反応容器本体および／または前記蓋材と接触するように設けられた熱伝導性金属ブロックをさらに備えることを特徴とする請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載の反応容器。
9. 前記反応液が P C R 用反応液であって、前記反応容器が P C R 用反応容器であることを特徴とする請求項 1 ～ 8 のいずれかに記載の反応容

器。

10. 請求項1～8のいずれかに記載の反応容器と温度制御装置とを備える反応装置であって、前記温度制御装置が、前記反応室および前記蓋材の温度を制御し得るように設けられていることを特徴とする反応装置。

11. 前記反応容器本体に被着した前記蓋材を前記反応容器本体から脱着させ得る蓋材脱着装置をさらに備えることを特徴とする請求項10記載の反応装置。

12. 前記反応容器が請求項9記載の反応容器であって、前記反応装置がPCR用反応装置であることを特徴とする請求項10または11記載の反応装置。

13. 反応室に収容された反応液を押圧部材で押圧する工程(a)と、前記反応液と前記反応室との接触面および前記反応液と前記押圧部材との接触面を介して前記反応液の温度を制御する工程(b)とを含むことを特徴とする反応液の温度制御方法。

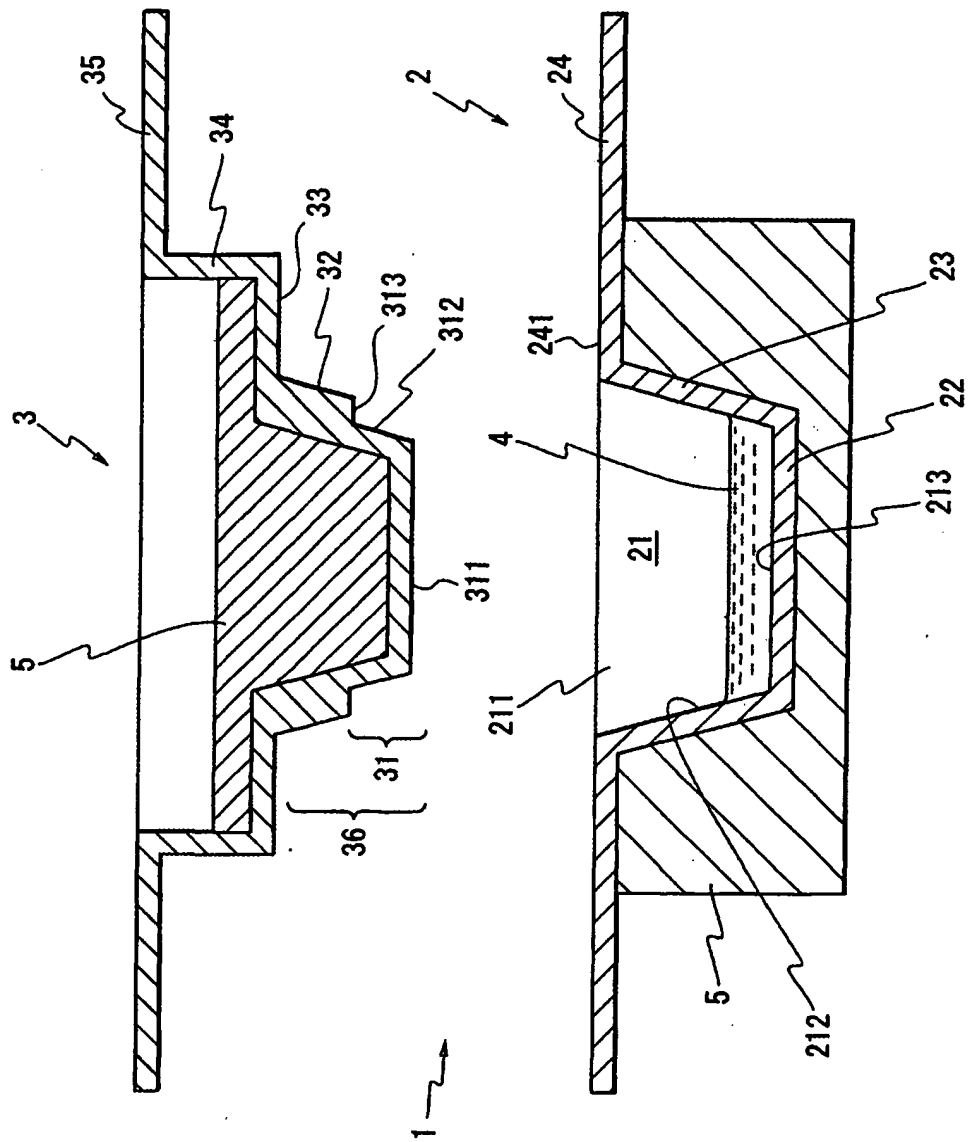
14. 前記工程(a)において、前記反応液と前記反応室との接触面積が増加するように、前記反応液を押圧することを特徴とする請求項13記載の反応液の温度制御方法。

15. 前記工程(a)において、前記反応液と前記押圧部材との接触面積が増加するように、前記反応液を押圧することを特徴とする請求項13または14記載の反応液の温度制御方法。

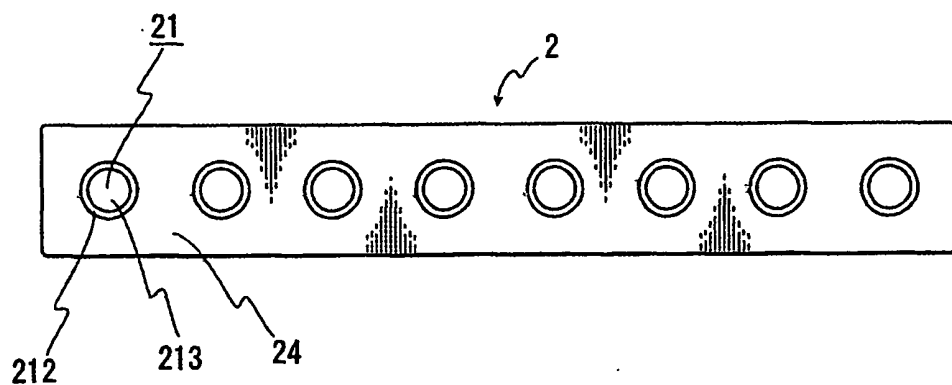
16. 前記工程(a)において、前記反応液が薄状となるように前記反応液を押圧することを特徴とする請求項13～15のいずれかに記載の温度制御方法。

17. 前記反応液がPCR用反応液であることを特徴とする請求項13～16のいずれかに記載の温度制御方法。

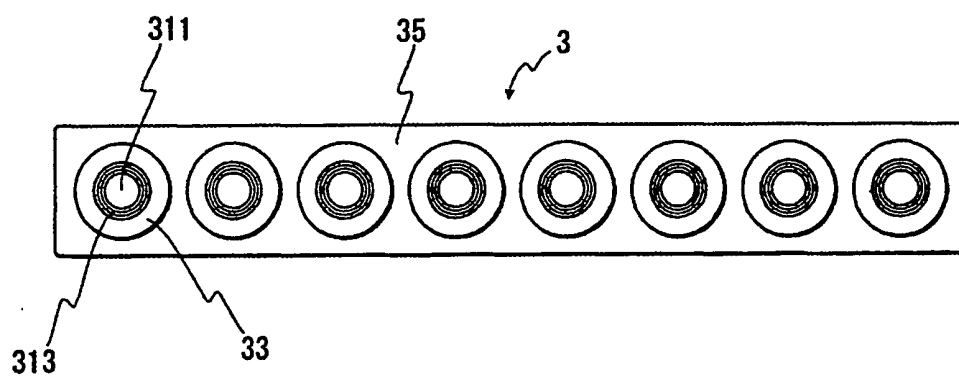
第 1 図



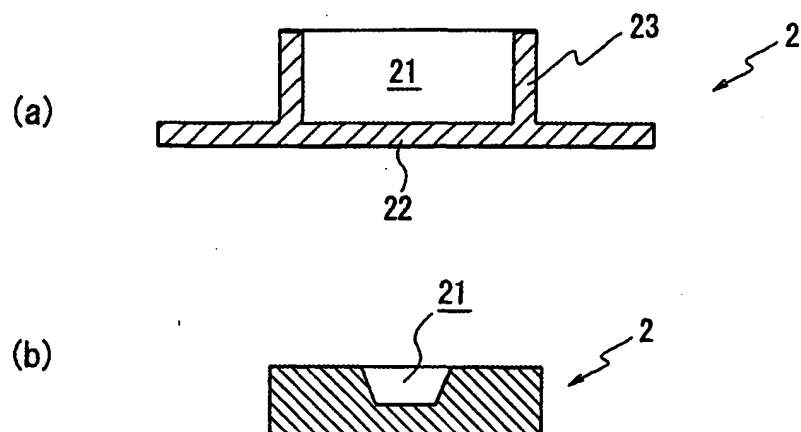
第 2 図



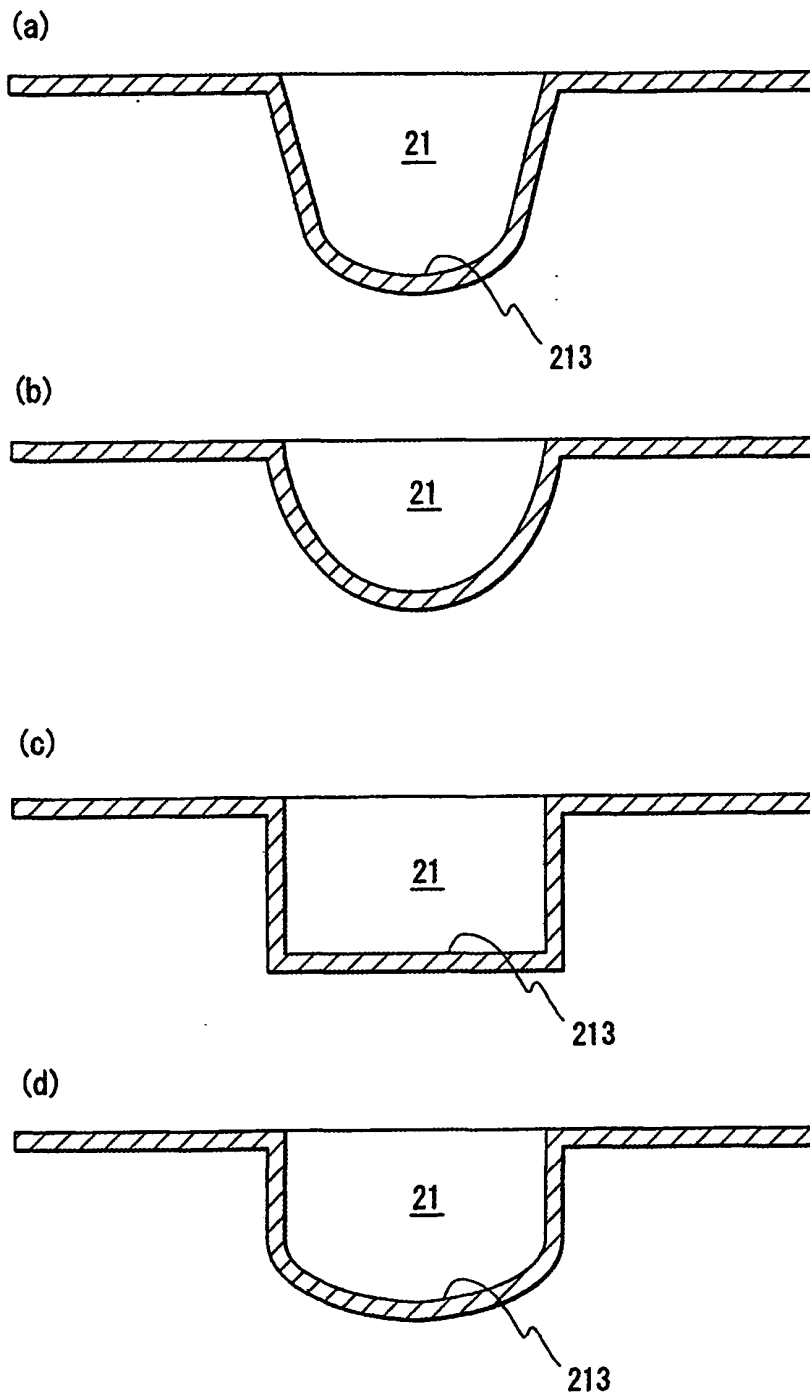
第 3 図



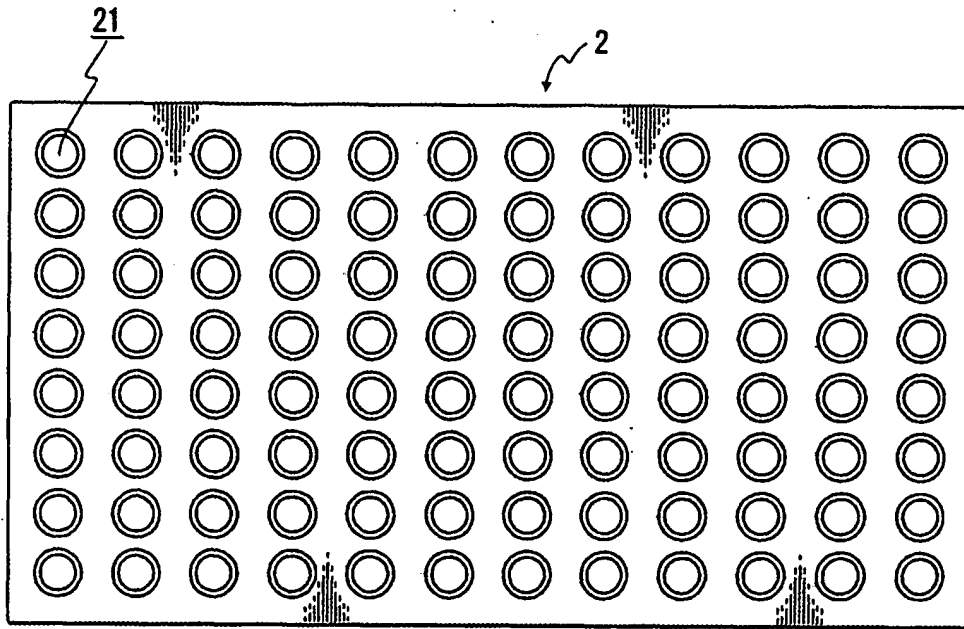
第 4 図



第 5 図

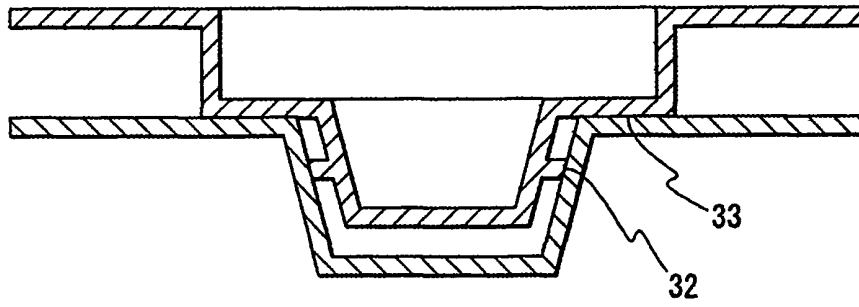


第 6 図

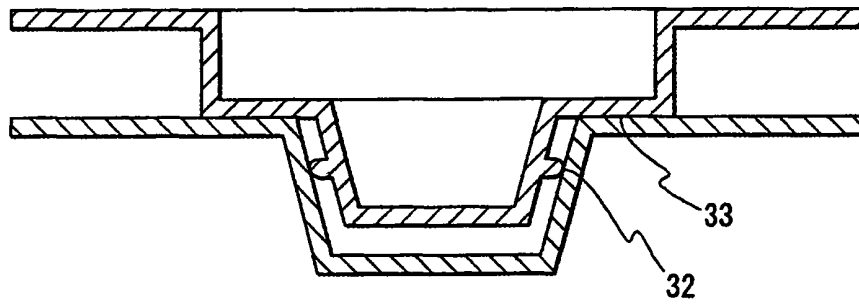


第 7 図

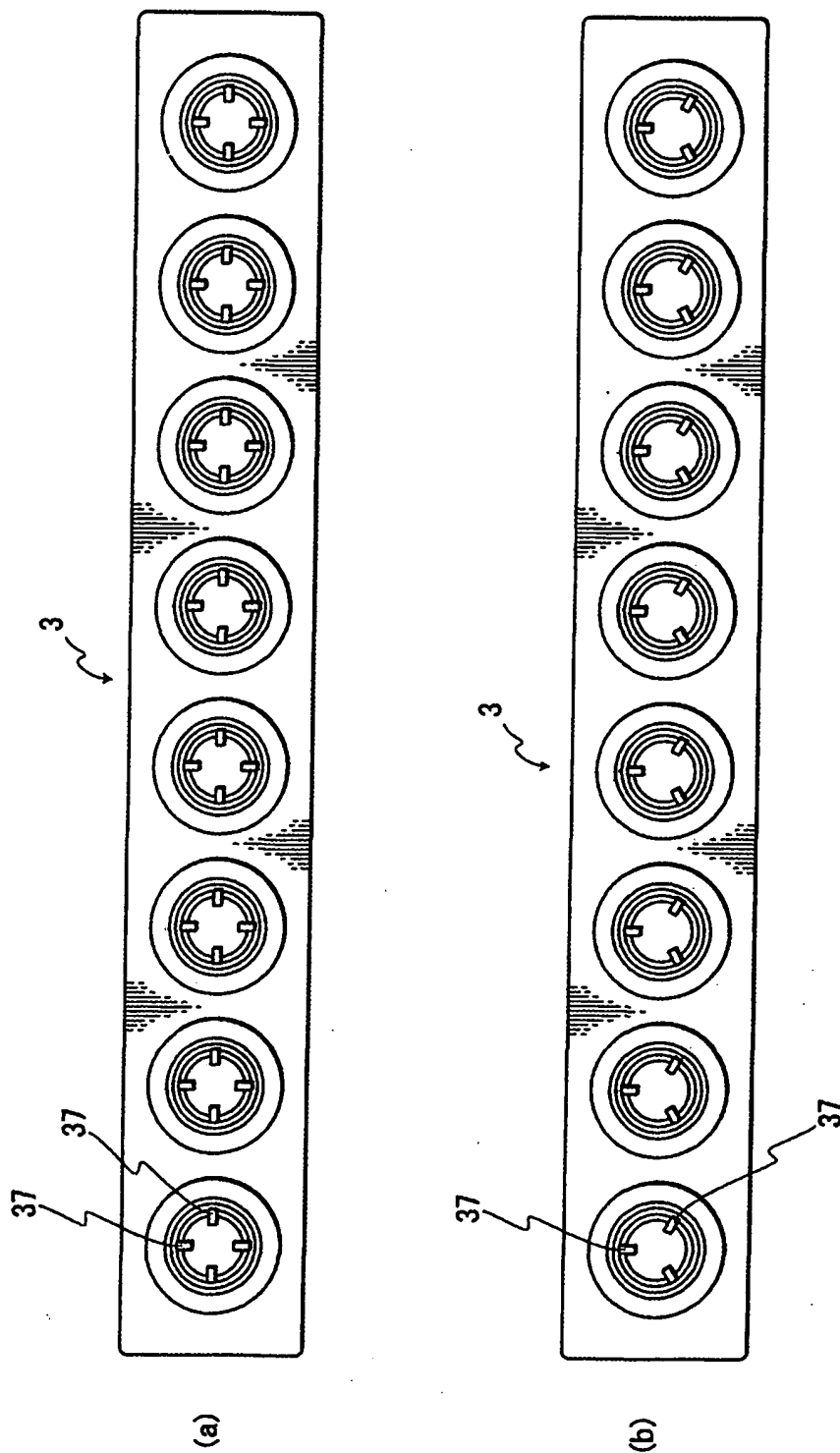
(a)



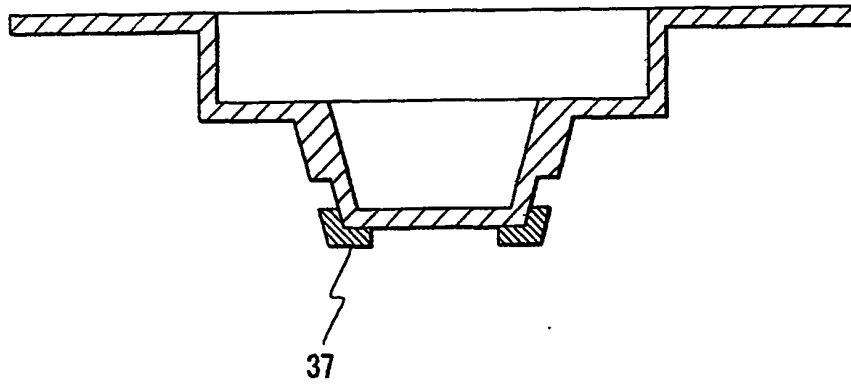
(b)



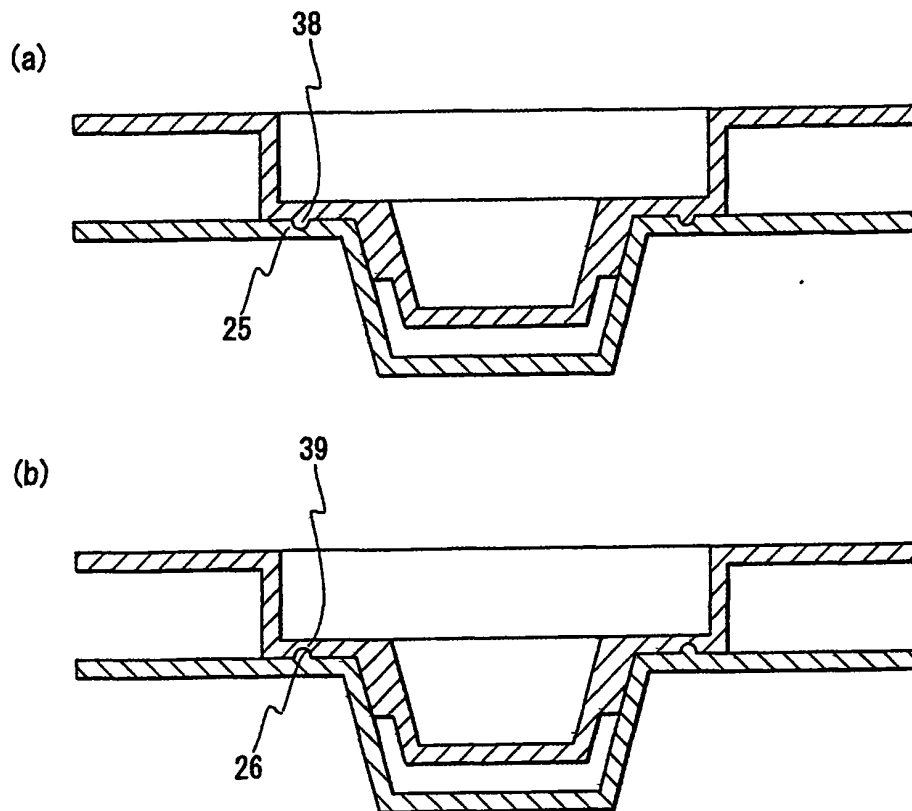
第 8 図



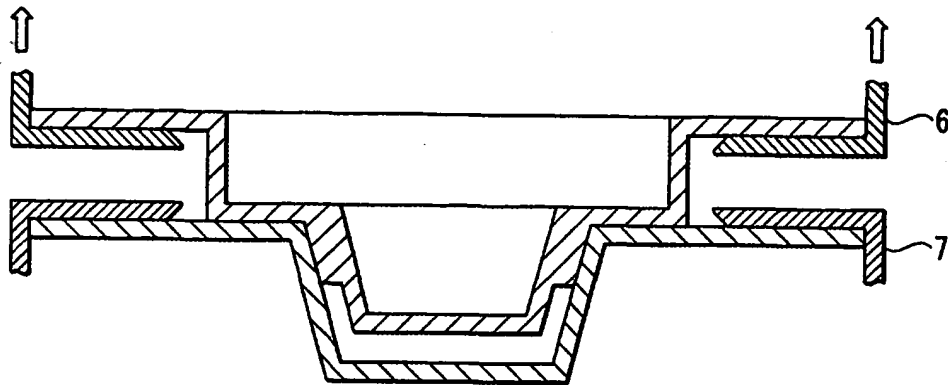
第 9 図



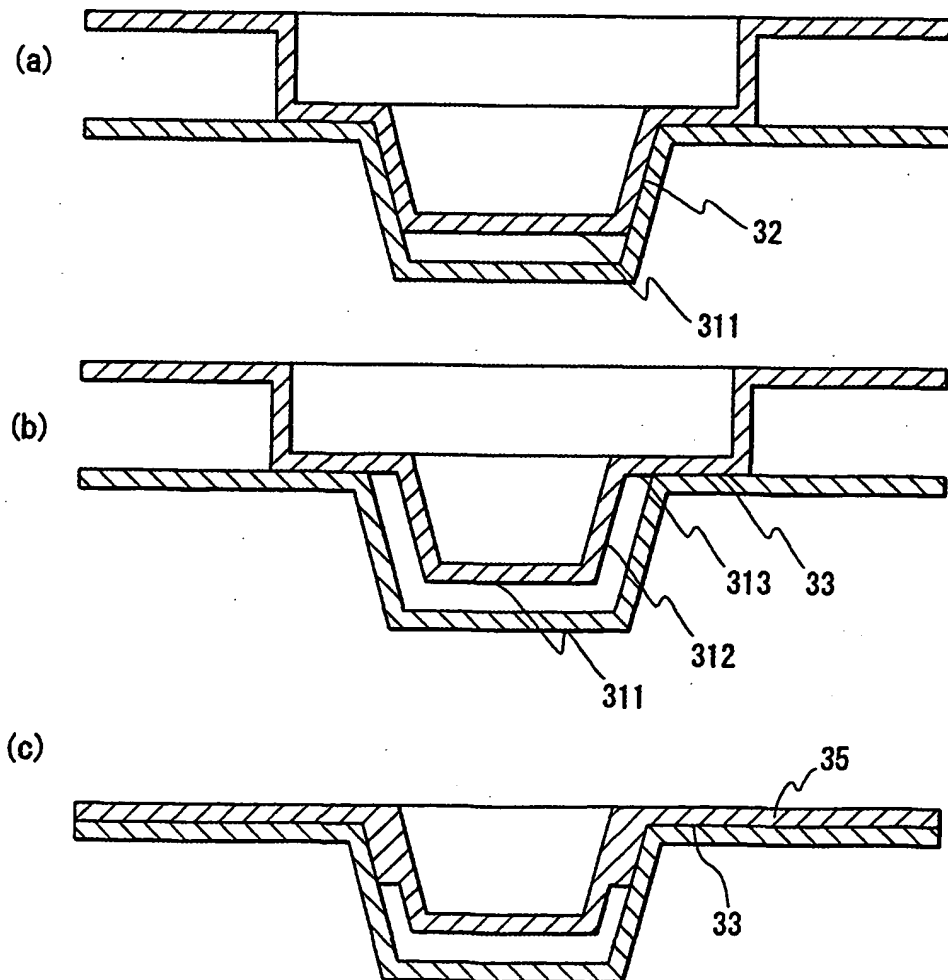
第 10 図



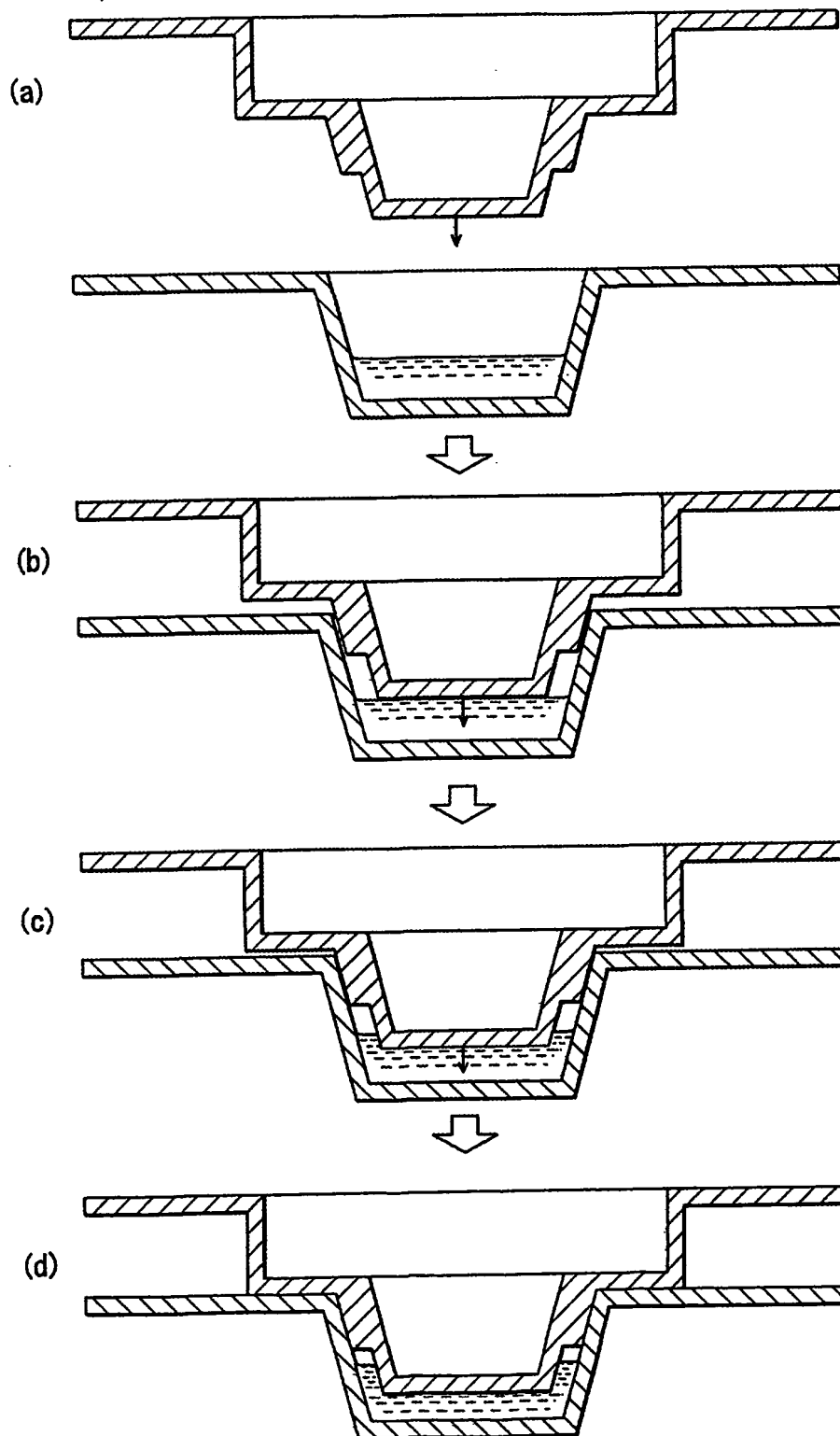
第 1 1 図



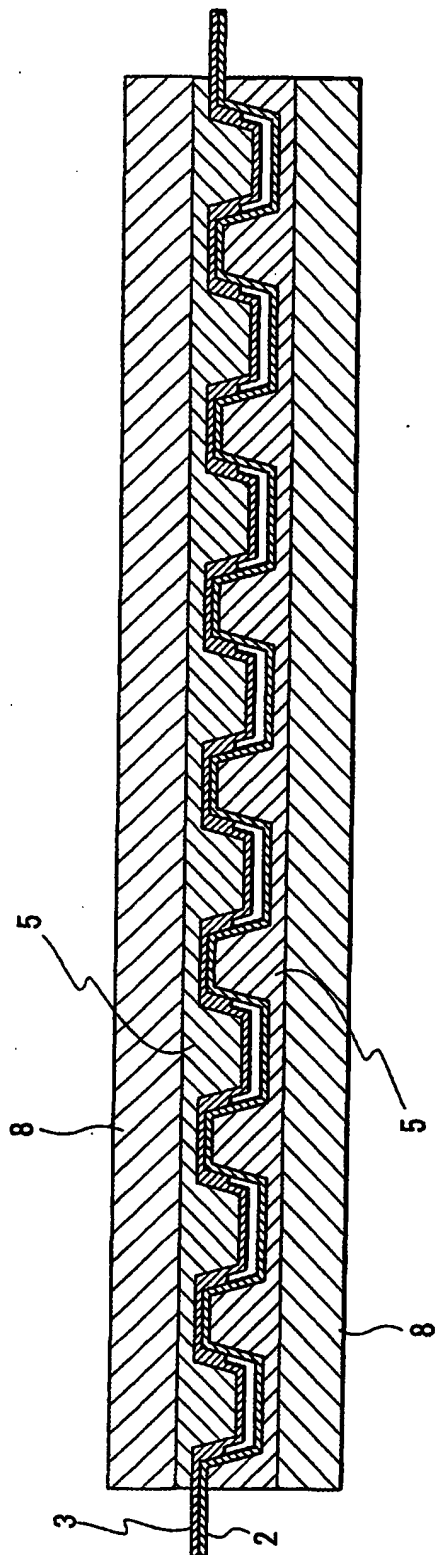
第 1 2 図



第 13 図



第 14 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05598

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C12M1/20, C12M1/38, C12Q1/68, B01J19/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C12M1/20, C12M1/38, C12Q1/68, B01J19/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	EP 611598 A (Perkin-Elmer Corporation), 24 August, 1994 (24.08.94), & CA 2106360 A & JP 6-245771 A & US 5364790 A & CN 1095759 A & IL 107131 A & US 5527510 A & US 5675700 A	1-4, 8-17 5-7
A	EP 183973 A (Becton Dickinson Co.), 11 June, 1986 (11.06.86), & JP 61-108372 A & US 4657857 A	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
22 August, 2001 (22.08.01)Date of mailing of the international search report
04 September, 2001 (04.09.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int.Cl ⁷ C12M1/20, C12M1/38, C12Q1/68, B01J19/00		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int.Cl ⁷ C12M1/20, C12M1/38, C12Q1/68, B01J19/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
JICST (JOIS)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	EP 611598 A (PERKIN-ELMER CORP) 24.8月.1994 (24.08.94) & CA 2106360 A & JP 6-245771 A & US 5364790 A & CN 1095759 A & IL 107131 A & US 5527510 A & US 5675700 A	1-4, 8-17 5-7
A	EP 183973 A (BECTON DICKINSON CO) 11.6月.1986 (11.06.86) & JP 61-108372 A & US 4657857 A	1-17
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	22.08.01	国際調査報告の発送日
		04.09.01
国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官 (権限のある職員)	4N 9839
日本国特許庁 (ISA/JP)	新見 浩一	
郵便番号100-8915		
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	電話番号 03-3581-1101 内線 3488	

様式PCT/ISA/210 (第2ページ) (1998年7月)

THIS PAGE BLANK (USPTO)